

•基础研究•

•论著•

## BANCR在增生性瘢痕中的表达及其作用机制

孙伟晶, 韩德志, 李世杰, 赵越, 隋富强, 付家琛, 狄利霞

(联勤保障部队第九六九医院烧伤整形科 内蒙古 呼和浩特 01005)

**[摘要]**目的: 探讨BANCR在人增生性瘢痕(Hypertrophic scar, HS)组织中的表达及其对HS成纤维细胞活性、凋亡及相关信号通路的影响。方法: 获取HS病理组织及正常皮肤组织, 采用苏木精-伊红染色法及马森染色观察病理形态; 实时荧光定量PCR(Real-time PCR, qRT-PCR)检测HS组织及正常组织中BANCR相对表达量。提取人HS成纤维细胞, 分为空白组(未转染的细胞)、BNACR siRNA组(细胞转染BNACR siRNA)、negative control组(细胞转染negative control)、pcDNA-BANCR组(细胞转染pcDNA-BANCR)、pcDNA-NC组(转染pcDNA-NC)。结果: HS组织中BANCR表达显著高于人正常组织( $P < 0.05$ ); 与空白组相比, BNACR siRNA组活性降低, 凋亡率升高( $P < 0.05$ ), 与空白组相比, pcDNA-BANCR组细胞活性升高, 凋亡率降低( $P < 0.05$ ); 与空白组相比, BNACR siRNA组细胞周期蛋白D1(CyclinD1)、细胞周期相关激酶4(Cyclin-dependent kinase 4, CDK4)、跨膜受体蛋白Notch-1(Notch1)蛋白水平降低, 半胱天冬氨酸蛋白酶(Cysteiny aspartate specific proteinases, Caspase)-3、Caspase-9、蛋白水平升高, pcDNA-BANCR组CyclinD1、CDK4、Notch1蛋白水平升高, Caspase-3、Caspase-9蛋白水平降低, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论: 增生性瘢痕组织中BANCR表达升高, 在人增生性瘢痕成纤维细胞中敲低BANCR可抑制细胞增殖, 加快凋亡, 研究机制可能与调控Notch1促进caspase-3、caspase-9及抑制cyclinD1、CDK4表达相关。

**[关键词]**增生性瘢痕; 成纤维细胞; BANCR; 增殖; 凋亡; 半胱天冬氨酸蛋白酶; Notch1

**[中图分类号]**R622 **[文献标志码]**A **[文章编号]**1008-6455(2025)06-0001-06

## Expression and Mechanism of BANCR in Hypertrophic Scars

SUN Weijing, HAN Dezhi, LI Shijie, ZHAO Yue, SUI Fuqiang, FU Jiachen, DI Lixia

(Department of Burns and Plastic Surgery, 969th Hospital of Joint Logistic Support Force, Hohhot 010051, Inner Mongolia, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the expression of BANCR in human hypertrophic scar (HS) tissues and its effect on the activity, apoptosis and related signaling pathways of HS fibroblasts. **Methods** HS pathological tissues and normal skin tissues were obtained, and the pathological morphology was observed by hematoxylin-eosin staining and Masson staining. Real-time quantitative PCR (qRT-PCR) was used to detect the relative expression of BANCR in HS tissues and normal tissues. Human HS fibroblasts were extracted and divided into blank group (untransfected cells), BNACR siRNA group (cells transfected with BNACR siRNA), negative control group (cells transfected with negative control), pcDNA-BANCR group (cells transfected with pcDNA-BANCR), pcDNA-NC group (transfected with pcDNA-NC). **Results** The expression of BANCR in HS tissues was significantly higher than that in human normal tissues ( $P < 0.05$ ). Compared with the blank group, the activity of BNACR siRNA group decreased and the apoptosis rate increased ( $P < 0.05$ ). Compared with the blank group, the cell activity of pcDNA-BANCR group increased and the apoptosis rate decreased ( $P < 0.05$ ). Compared with the blank group, the levels of CyclinD1, cyclin-dependent kinase 4 (CDK4) and transmembrane receptor protein Notch-1 (Notch1) in the BNACR siRNA group were decreased, and the levels of cysteinyl aspartate specific proteinases (Caspase)-3, Caspase-9 and protein were increased. The protein levels of CyclinD1, CDK4 and Notch1 in pcDNA-BANCR group were increased, and the protein levels of Caspase-3 and Caspase-9 were decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The expression of BANCR in hypertrophic scar tissue is increased. Knockdown of BANCR in human hypertrophic scar fibroblasts can inhibit cell proliferation and accelerate apoptosis. The

基金项目: 2022年自治区卫生健康科技计划项目(名称: BANCR在增生性瘢痕中的表达及其作用机制; 编号: 202202411)

通信作者: 韩德志, 副主任医师; 研究方向为危重烧伤救治、创面修复、瘢痕防治。E-mail: hdz253@163.com

第一作者: 孙伟晶, 主治医师; 研究方向为烧伤整形。E-mail: 56718491@qq.com

mechanism may be related to the regulation of Notch1 to promote caspase-3 and caspase-9 and inhibit cyclinD1 and CDK4 expression.

**Key words:** hypertrophic scar; fibroblasts; BANCR; proliferation; apoptosis; cysteine aspartic protease; notch1

瘢痕是皮肤组织真皮网状层受损后愈合出现的产物,主要分为常规瘢痕、增生性瘢痕(HS)及瘢痕疙瘩等<sup>[1]</sup>。HS属于临床常见的病理学瘢痕,HS组织特点是胶原过度沉积、成纤维细胞异常增殖及血管密切增加,早期色红质硬且多伴随瘙痒、灼痛等,在影响患者生理障碍的同时可造成负面心理,影响患者预后<sup>[2]</sup>。HS疾病临床治疗可包含手术、放疗、冷冻等疗法,但部分方法具有治疗后复发及疗效不明显,因此寻找新的治疗方法至关重要。现阶段,随着分子生物学技术的发展,非编码RNA被认为可参与HS疾病的发生发展,其中长链非编码RNA(LncRNA)是其中之一。BANCR是由Flockhart于2012年通过RNA-seq筛选出的LncRNA,被证实参与疾病的发生发展<sup>[3]</sup>。例如在胰腺癌<sup>[4]</sup>细胞中BANCR表达上调加快癌细胞转移;晶体上皮细胞中抑制BANCR表达后可减少细胞增殖<sup>[5]</sup>;在黑素瘤中BANCR表达上调调控Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路而减少肿瘤细胞间质转化<sup>[6]</sup>。但是关于BANCR在HS中作用及机制还需要进一步了解,本文通过收集HS患者皮肤组织检测BANCR表达,且通过对增生性瘢痕成纤维化细胞进行转染,观察对细胞增殖、凋亡及相关因子的影响,有望为相关研究提供参考依据。

## 1 资料和方法

1.1 一般资料:选取2022年3月-2023年12月笔者医院手术治疗的52例HS患者作为研究对象。52例患者,其中男35例,女17例;年龄15~96岁,平均年龄(31.22±11.96)岁;病程2~19个月,平均病程(12.30±2.24)个月;瘢痕部位:面颈部27例,胸腹部16例,四肢9例;病因:手术20例,烧伤18例,痤疮14例。本研究经过笔者医院伦理委员会审批(伦理号:2022006)。

1.1.1 纳入标准:①符合《现代瘢痕学》<sup>[6]</sup>的相关诊断标准;②瘢痕呈红色且隆起,伴有瘙痒且疼痛;③在笔者医院接受规范治疗;④年龄>18岁;⑤病程1~5年;⑥术前30 d未经过放疗、激光等治疗;⑦临床资料齐全。

1.1.2 排除标准:①合并恶变;②合并瘢痕疙瘩;③合并其他皮肤疾病;④瘢痕处感染者;⑤合并恶性肿瘤者。

1.2 标本采集:手术过程中获取HS病理全层组织2 g,同时取植皮时多余的正常全层组织2 g,均固定于10%的中性甲醛溶液中,乙醇脱水,二苯甲浸泡石蜡包埋,制定4  $\mu$ m切片后置于-80℃液氮保持备用。

1.3 苏木精-伊红(HE)染色及Masson染色

1.3.1 HE染色:将病理切片置于二甲苯中脱蜡,酒精脱水(70%~80%~90%~95%),自来水冲洗后,苏木精染色,1%的盐酸-乙醇分化,水洗蓝化,1%的伊红复染,酒精透水。

1.3.2 Masson染色:病理切片置于二苯甲浸泡20 min,梯

度酒精(95%~90%~80%~70%)脱水,苏木精染色,1%的盐酸分化后丽春红染色5~10 min,蒸馏水漂洗,苯胺蓝染色,酒精脱水及中性树脂封片。

1.4 qRT-PCR检测组织中BANCR 相对表达量:取正常皮肤组织及HS组织样本,研磨成匀浆,采用TRIzol试剂提取组织总RNA,将RNA逆转录为cDNA,并以cDNA为模板制成总反应体系(10  $\mu$ l),采用荧光定量PCR仪器检测BANCR相对表达率,根据 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 值计算,以GAPDH为内参。BANCR引物具体如下:F:5'-CGG GTC TAC GCC TAC GTC GTG CTT C-3'; 5'-CAC AGC TCT GTG CGA TCC TGC TTG CTG-3'; GAPDH: 5'-AGA AGG CTG GGG CTC ATT TG-3'; 5'-AGG GGC CAT CCA CAG TCT TC-3'。

1.5 HS成纤维细胞培养:取HS组织采用PBS冲洗3次,手术刀去除表皮及皮下组织,采用含有3%青霉素的PBS,反复冲洗组织2 min,将组织剪碎成1 mm<sup>3</sup>细小碎块,PBS清洗2遍后放入37℃恒温摇床中消化2 h。采用1 ml移液枪吹散细胞悬液,采用滤网过滤2次。将装有细胞悬液的离心管,按照1 000 r/min离心5 min,弃上清液加入5 ml的完全培养基,重悬细胞,在37℃、5%CO<sub>2</sub>及饱和湿度的孵箱中孵化24 h,按照1:3进行传代,第2~4代用于后续实验。

1.6 主要试剂和仪器:BNACR siRNA、negative control引物由中国上海生工生物工程股份有限公司合成;pcDNA-BANCR、pcDNA-NC质粒由美国Invitrogen公司合成;1640完全培养基购自以色列BioLogical Industries公司,货号:04-010-1A;Lipofectamine 2000转染试剂购自赛默飞公司,货号:11668;胎牛血清、0.25%胰蛋白酶购自Corning公司,货号35-015-CV、25-053-CL;细胞周期蛋白D1(cyclinD1)、细胞周期相关激酶4(Cyclin-dependent kinase 4, CDK4)、半胱天冬氨酸蛋白酶(Cysteiny aspartate specific proteinases, Caspase)-3、Caspase-9、跨膜受体蛋白Notch-1(Notch1)抗体均购自Abcam公司,货号:ab40754、ab108357、ab305667、ab198061、ab221603;Attune NxT流式细胞仪购自赛默飞世尔科技生命科学产品;DYY-6C蛋白电泳仪购自北京六一生物科技有限公司。

1.7 HS成纤维细胞鉴定:取对数生长细胞放入24个孔板中,孵育12 h,采用200  $\mu$ l枪头取适量PBS溶液,洗涤2次,加入甲醛固定,30 min后用PBS洗涤3次,室温封闭60 min,加入一抗孵育30 min后采用PBS洗涤,后加入二抗避光条件下孵育60 min,PBS洗涤5次,1次/分钟,进行细胞爬片,加入DAPI染色再进行孵育,采用荧光显微镜下观察。

1.8 BANCR转染方法及分组:取对数生长的HS成纤维细胞,接种于6孔板中,细胞融合为50%按照Lipofectamine

2000说明书转染,将BNACR siRNA、negative control、pcDNA-BANCR、pcDNA-NC转染到细胞株中,37.5℃,5%CO<sub>2</sub>继续培养。12 h后将无血清培养基更换为完全培养基,继续培养24 h后,提取细胞RNA。分组:空白组(未转染的HS成纤维细胞)、BNACR siRNA组(HS成纤维细胞转染BNACR siRNA)、negative control组(HS成纤维细胞转染negative control)、pcDNA-BANCR组(HS成纤维细胞转染pcDNA-BANCR)、pcDNA-NC组(HS成纤维细胞转染pcDNA-NC),采用qRT-PCR验证转染效率,同1.4方法。

1.9 MTT检测细胞增殖:HS成纤维细胞接种于96孔板,6×10<sup>3</sup>个细胞/孔,细胞贴壁24 h加入新鲜MTT溶液(5 μg/μl)20微升/孔,培养4 h,小心吸弃上清液,加入二甲亚砜150微升/孔,震荡10 min。采用酶联免疫检测仪检测490 nm波长处吸光度(OD)值,根据数据绘制细胞生长抑制率曲线。

1.10 末端脱氧核苷酸标记法(TUNEL)检测细胞凋亡:取转染后各组细胞,进行消化、离心,弃掉上清液后重悬细胞,以密度为1×10<sup>5</sup>个/毫升接种于96孔板中,常规培养待细胞贴壁后,每孔加入0.5 ml 4%多聚甲醛溶液固定10 min, PBS溶液洗涤3次,将孔板放入0.1% Triton X-100的PBS中冰浴2 min,加入5 μl TdT和450 μl荧光标记dUTP,然后根据TUNEL检测说明书取TUNEL反应液,将孔板浸入TUNEL反应液中,恒温下避光孵育1 h, PBS洗涤3次,加入DAPI染色液,37℃避光水浴5 min, PBS洗涤3次后用50%的甘油封片,在暗室中用荧光显微镜观察、拍照,凋亡的细胞呈现蓝色荧光,凋亡率=凋亡细胞数/总细胞数×100%。

1.11 免疫印迹检测CyclinD1、CDK4、Caspase-3、Caspase-9、Notch1蛋白:磷酸盐缓冲液清洗HS成纤维细胞,添加蛋白裂解液裂解细胞10 min,将2.0 ml的样本收集至离心管中,10 000 r/min离心,离心30 min,60 s后提取上清液,每个样本取25 μl检测蛋白浓度。按照样本制备溶液,采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶,计算初含50 μg的蛋白所需的液体进行上样,开始电泳。当Marker蛋白置于玻璃板底部时则停止跑胶。继续转膜,PVDF膜从转膜槽中取出采用TBST漂洗5 min,加入稀释后的一抗CyclinD1(1:150)、CDK4(1:100)、Caspase-3(1:100)、Caspase-9(1:100)、Notch1(1:100),加入辣根过氧化物酶标记的二抗(1:1 000),孵育时间为2 h。避光环境下将显影液加入PDCF膜,45 s,采用Image-Lab图像分析系统进行成像和分析。

1.12 统计学分析:采用SPSS 26.00统计软件对数据进行分析,计数资料以(%)表示,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )的形式表示,组内均采用配对样本 $t$ 检验,组间采用独立样本 $t$ 检验,计数资料以[例(%)]表示,组间比较采用 $\chi^2$ 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 HS组织病理结果:HE染色结果显示,正常皮肤组织形

态排列有序,而HS组织皮下胶原增生且排列紊乱,可见炎症细胞浸润;Masson染色结果显示,与正常组织相比,HS组织可见明显的胶原增生,见图1。

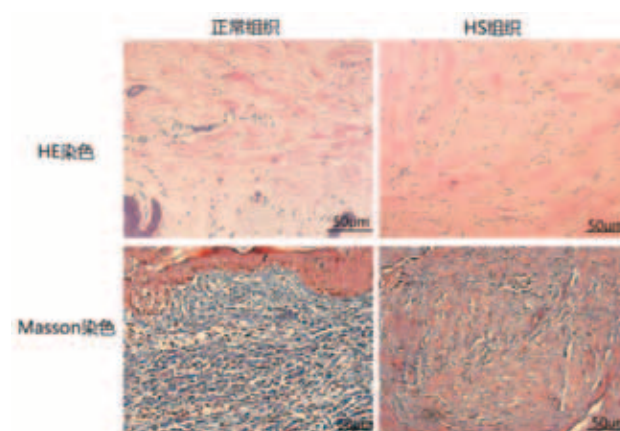
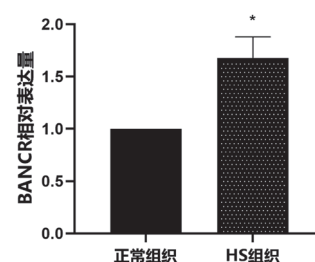


图1 人正常组织及HS组织HE染色及Masson染色结果(200×)

2.2 qRT-PCR检测HS组织中BANCR相对表达量:人正常皮肤组织及HS组织中BANCR相对表达量分别为(1.00±0.00)及(1.68±0.20),HS组织中BANCR表达显著高于人正常皮肤组织( $P < 0.05$ ),见图2。



注:\*表示与正常皮肤组织相比, $P < 0.05$

图2 正常皮肤组织及HS组织中BANCR表达

2.3 HS成纤维细胞的鉴定:图3A为原代HS成纤维细胞,图3B为对数生长期第3代HS成纤维细胞,呈现梭形生长,图3C为波形蛋白染色呈阳性绿色,经DAPI复染成蓝色。

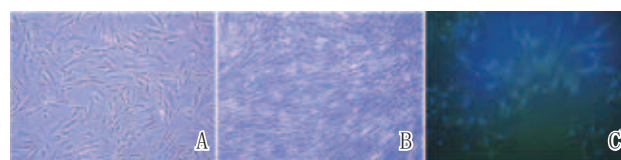
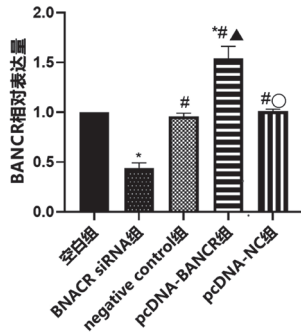


图3 HS成纤维细胞形态及鉴定(200×)

2.4 各组HS成纤维细胞的BANCR转染情况:空白组、BNACR siRNA组、negative control组、pcDNA-BANCR组、pcDNA-NC组的HS成纤维细胞的BANCR相对表达量分别为(1.00±0.00)、(0.44±0.05)、(0.96±0.03)、(1.54±0.12)及(1.01±0.02)( $F=249.900$ , $P < 0.001$ )。空白组、



negative control组及pcDNA-NC组的BANCR表达比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),与空白组相比,BNACR siRNA组BANCR降低,pcDNA-BANCR组BANCR升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),证明各组细胞BANCR转染成功。见图4。



注: \*表示与空白组相比,  $P<0.05$ ; #表示与BNACR siRNA组相比,  $P<0.05$ ; ^表示与negative control组相比,  $P<0.05$ ; °表示与pcDNA-BANCR组相比,  $P<0.05$

图4 各组HS成纤维细胞的BANCR相对表达量比较

2.5 各组HS成纤维细胞活性比较: 各组HS成纤维细胞24 h、36 h、72 h及96 h的细胞活性存在时间、组间作用。24 h、36 h、72 h及96 h时,空白组、negative control组、pcDNA-NC组组间细胞活性比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );与空白组相比,BNACR siRNA组HS成纤维细胞活性降低

( $P<0.05$ ),与空白组相比,pcDNA-BANCR组细胞活性升高( $P<0.05$ ),见表1。

2.6 各组HS成纤维细胞凋亡率比较: 空白组、BNACR siRNA组、negative control组、pcDNA-BANCR组、pcDNA-NC组的HS成纤维细胞的凋亡率分别为( $8.20\pm0.85$ )%、( $25.40\pm3.17$ )%、( $8.63\pm1.01$ )%、( $3.07\pm0.06$ )%及( $7.96\pm0.77$ )% ( $F=177.000$ ,  $P<0.001$ )。空白组、negative control组及pcDNA-NC组的细胞凋亡率比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),与空白组相比,BNACR siRNA组凋亡率升高,pcDNA-BANCR组凋亡率降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见图5。

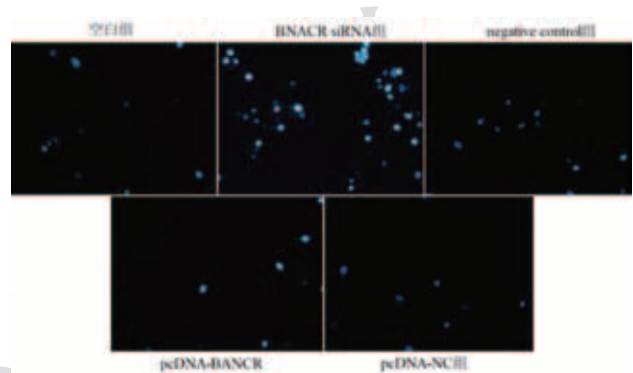


图5 各组HS成纤维细胞凋亡率比较 (Tunel染色, 200×)

2.7 各组HS成纤维细胞cyclinD1、CDK4、Caspase-3、

表1 各组HS成纤维细胞活性比较

[490 nm (OD),  $\bar{x}\pm s$ ]

组别	24 h	36 h	72 h	96 h
空白组	$0.29\pm0.09$	$0.43\pm0.15$	$0.86\pm0.23$	$1.31\pm0.28$
BNACR siRNA组	$0.13\pm0.02^*$	$0.24\pm0.08^*$	$0.45\pm0.11^*$	$0.78\pm0.18^*$
negative control组	$0.28\pm0.10^\#$	$0.42\pm0.13^\#$	$0.83\pm0.25^\#$	$1.30\pm0.25^\#$
pcDNA-BANCR组	$0.55\pm0.23^{*\#^\wedge}$	$0.98\pm0.2^{*\#^\wedge}$	$1.44\pm0.30^{*\#^\wedge}$	$1.72\pm0.37^{*\#^\wedge}$
pcDNA-NC组	$0.29\pm0.14^{^\circ}$	$0.43\pm0.18^{^\circ}$	$0.85\pm0.26^{^\circ}$	$1.31\pm0.29^{^\circ}$
$F_{\text{时间}}$ 值, $P_{\text{时间}}$ 值	39.320, $<0.001$			
$F_{\text{组间}}$ 值, $P_{\text{组间}}$ 值	121.200, $<0.001$			
$F_{\text{交互}}$ 值, $P_{\text{交互}}$ 值	1.458, 0.153			

注: \*表示与空白组相比,  $P<0.05$ ; #表示与BNACR siRNA组相比,  $P<0.05$ ; ^表示与negative control组相比,  $P<0.05$ ; °表示与pcDNA-BANCR组相比,  $P<0.05$ 。

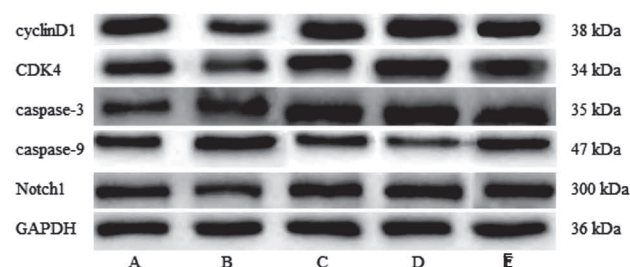
表2 各组CyclinD1、CDK4、Caspase-3、Caspase-9、Notch1蛋白水平比较

( $\bar{x}\pm s$ )

组别	CyclinD1	CDK4	Caspase-3	Caspase-9	Notch1
空白组	$0.88\pm0.10$	$0.63\pm0.08$	$0.50\pm0.07$	$0.71\pm0.10$	$1.41\pm0.16$
BNACR siRNA组	$0.41\pm0.07^*$	$0.28\pm0.04^*$	$0.97\pm0.09^*$	$1.15\pm0.16^*$	$0.69\pm0.08^*$
negative control组	$0.85\pm0.09^\#$	$0.60\pm0.09^\#$	$0.52\pm0.06^\#$	$0.74\pm0.08^\#$	$1.38\pm0.17^\#$
pcDNA-BANCR组	$1.27\pm0.16^{*\#^\wedge}$	$0.93\pm0.08^{*\#^\wedge}$	$0.31\pm0.05^{*\#^\wedge}$	$0.42\pm0.05^{*\#^\wedge}$	$2.20\pm0.23^{*\#^\wedge}$
pcDNA-NC组	$0.91\pm0.11^{^\circ}$	$0.66\pm0.10^{^\circ}$	$0.48\pm0.08^{^\circ}$	$0.70\pm0.08^{^\circ}$	$1.44\pm0.15^{^\circ}$
$F$ 值	46.150	49.340	71.210	40.210	62.910
$P$ 值	$<0.001$	$<0.001$	$<0.001$	$<0.001$	$<0.001$

注: \*表示与空白组相比,  $P<0.05$ ; #表示与BNACR siRNA组相比,  $P<0.05$ ; ^表示与negative control组相比,  $P<0.05$ ; °表示与pcDNA-BANCR组相比,  $P<0.05$ 。

Caspase-9、Notch1蛋白水平比较：空白组、negative control组及pcDNA-NC组的CyclinD1、CDK4、Caspase-3、Caspase-9、Notch1蛋白水平比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )，与空白组相比，BNACR siRNA组cyclinD1、CDK4、Notch1蛋白水平降低，Caspase-3、Caspase-9蛋白水平升高，pcDNA-BANCR组cyclinD1、CDK4、Notch1蛋白水平升高，Caspase-3、Caspase-9蛋白水平降低，差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )，见表2、图6。



注：A. 空白组；B. BNACR siRNA组；C. negative control组；D. pcDNA-BANCR组；E. pcDNA-NC组

图6 各组CyclinD1、CDK4、Caspase-3、Caspase-9、Notch1蛋白电泳图

### 3 讨论

BANCR是其中一个备受关注的lncRNA，本研究旨在探讨BANCR在人增生性瘢痕组织中的表达情况，并研究其对HS成纤维细胞活性、凋亡及相关信号通路的影响，为相关研究提供有利依据。本文研究结果表明：通过HE染色和Masson染色观察，发现HS组织中存在明显的胶原增生和排列紊乱，以及炎症细胞浸润，与正常皮肤组织形态相比呈现出明显的差异。此外，测定了正常组织和HS组织中BANCR的相对表达量。结果显示，HS组织中BANCR的表达显著高于正常组织，这表明BANCR在HS形成中可能扮演重要角色。BANCR以趋化因子配体11 (CXCL11) 基因作为调控靶点，BANCR过表达可通过调控CXCL11进而加快肿瘤细胞侵袭及转移<sup>[7]</sup>。而在瘢痕组织中CXCL11呈现高表达，可以加快瘢痕组织血管生成，进一步加快疾病发生发展<sup>[8]</sup>。本文认为在HS产生过程中BANCR呈现过表达并可上调CXCL11活性加快炎症反应及瘢痕形成。本文研究结果显示：对HS成纤维细胞中敲低BANCR可抑制细胞增殖，加快凋亡，而过表达BANCR则可逆转这一现象，这说明在HS疾病过程中BANCR可以调控细胞活性参与疾病产生。在创伤或手术后，成纤维细胞被活化增殖和胶原蛋白的合成过程失去平衡，导致瘢痕组织的过度增生和扩展，形成HS<sup>[9-10]</sup>。因此，加快凋亡为HS的治疗提供了新的思路。有研究表明，在胃癌细胞中沉默BANCR可降低细胞增殖及侵袭能力，研究机制与核因子 (NF)- $\kappa$ B1表达受到抑制相关<sup>[11]</sup>。而NF- $\kappa$ B在HS成纤维细胞中表达升高，调控miR-21后可抑制细胞增殖，促进凋亡<sup>[12]</sup>。细胞外信号调节激酶/丝裂原活化蛋白激酶 (ERK/MAPK) 可促进HS成纤维细胞增殖，机制在于其被激活后可迅

速转移至细胞核，加强应答而加快细胞生长<sup>[13]</sup>。而在黑色素瘤中BANCR可通过激活ERK/MAPK而加快细胞增殖及转移<sup>[14]</sup>。本文认为在HS成纤维细胞中BANCR可调节相关信号通路而加快成纤维细胞活性，而敲除后则可改变这一现象，加快凋亡。

CyclinD1是确保细胞分化的关键周期蛋白，可与CDK4结合后形成复合体，并进一步激活CDK4下游成视网膜母细胞瘤蛋白 (Retinoblastoma protein, pRb) 蛋白磷酸化，加强与转录因子 (Recombinant E2F transcription factor, E2F) 等转路因子活性，启动E2F下游信号细胞周期调控失衡，导致细胞异常增殖<sup>[15]</sup>。Notch信号在创面愈合中具有重要作用，且发现在HS组织中高表达，并采用抑制剂后可下调角质形成细胞中纤维化因子的产生，减少向肌层纤维细胞分化，减轻了瘢痕<sup>[16]</sup>。细胞增殖及凋亡是维持内源性稳定的关键，Caspase级联反应是细胞凋亡的重要因子，可通过激活Caspase-3、Caspase-9而诱导细胞凋亡<sup>[17-18]</sup>。有研究表明，在HS成纤维细胞中通过抑制Notch1可降低CyclinD1、CDK4表达进而遏制细胞分化，同时Caspase-3、Caspase-9表达明显升高，认为Notch1可通过降低线粒体膜电位促进Caspase凋亡反应发生<sup>[19]</sup>。本文研究结果显示：敲低BANCR后HS成纤维细胞中CyclinD1、CDK4、Notch1蛋白水平降低，Caspase-3、Caspase-9蛋白水平升高，而pcDNA-BANCR组的这些蛋白水平则呈相反的趋势，认为调控BANCR表达对上述因子活性产生影响进一步控制HS成纤维细胞活性。有研究表明，BANCR参与包括黑色素瘤的发生和发展，在黑色素瘤组织和细胞系中的表达较高，敲低BANCR抑制黑色素瘤细胞增殖和侵袭，诱导细胞凋亡，并发现miR-204是BANCR的直接靶点，而Notch2是miR-204的直接靶点，BANCR可能通过抑制miR-204促进黑色素瘤细胞生长，从而激活Notch2通路，增加致癌性<sup>[20]</sup>。因此，本文认为BANCR可通过调控Notch1进而抑制CyclinD1、CDK4表达激活Caspase-3、Caspase-9表达而促进HS成纤维细胞凋亡。

综上所述，增生性瘢痕组织中BANCR表达升高，在人增生性瘢痕成纤维细胞中敲低BANCR可抑制细胞增殖，加快凋亡，研究机制可能与调控Notch1促进Caspase-3、Caspase-9及抑制CyclinD1、CDK4表达相关。

### [参考文献]

- [1]Ogawa R, Dohi T, Tosa M, et al. The latest strategy for keloid and hypertrophic scar prevention and treatment: the nippon medical school (NMS) protocol[J]. J Nippon Med Sch, 2021,88(1):2-9.
- [2]张伟, 程默, 郭静. 奇正青鹏膏联合点阵激光治疗增生性瘢痕疗效观察[J]. 中国美容医学, 2020,29(3):63-65.
- [3]Flockhart R J, Webster D E, Qu K, et al. BRAFV600E remodels the melanocyte transcriptome and induces BANCR to regulate melanoma cell migration[J]. Genome Res, 2012,22(6):1006-1014.
- [4]郝少龙, 韩威, 纪宇, 等. BANCR调控VEGF-C/VEGFR-3通路促进胰腺癌微淋巴管生成[J]. 中华普通外科学文献 (电子版),

- 2021,15(4):269-272.
- [5]刘含若,白玮玲,夏子尧,等. lncRNA BANCER在晶体上皮细胞上皮-间质转化,增殖、凋亡及自噬的作用[J].现代生物医学进展, 2020,20(17):3243-3247,3216.
- [6]杨晓静,孟玮,徐宏俊,等. 长链非编码BANCER通过激活Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路调控黑色素瘤细胞迁移和侵袭行为[J].中国免疫学杂志, 2018,34(1):50-54,59.
- [7]Zhang Y, Chen Y, Zhang L, et al. lncRNA CLRN1-AS1 reduces adhesion ability of human trophoblasts via CXCL10/CXCL11[J]. Placenta, 2023,7(140):47-59.
- [8]王晨超. 趋化因子CXCL11/I-TAC和CCL22/MDC在病理性瘢痕中的表达[D].沈阳:中国医科大学,2008.
- [9]唐玉婷,贺茜,万瑀,等. 紫草素调控MicroRNA-382-5p抑制人增生性瘢痕成纤维细胞纤维化[J]. 中国组织工程研究, 2023,27(35):5642-5648.
- [10]Venugopal H, Hanna A, Humeres C, et al. Properties and functions of fibroblasts and myofibroblasts in myocardial infarction[J]. Cells, 2022,11(9):1386.
- [11]马松林,徐丹,王剑,等. 长链非编码RNABANCER在胃癌细胞中的表达变化及对AGS细胞增殖、迁移能力的影响[J].山东医药, 2018,58(23):36-38.
- [12]周晟. miR-21调节NF- $\kappa$ B信号通路对瘢痕成纤维细胞增殖及凋亡的影响[J].浙江实用医学, 2020,25(6):442-445.
- [13]李鹏程,向雪宝,何楠,等. MIF通过调控ERK/MAPK及TGF- $\beta_1$ /Smads通路影响瘢痕成纤维细胞活力和凋亡[J].中国病理生理杂志, 2021,37(6):1067-1075.
- [14]Richtig G, Ehall B, Richtig E, et al. Function and clinical implications of long non-coding RNAs in melanoma[J]. Int J Mol Sci, 2017,18(4):715.
- [15]林宇静. 细胞周期调控系统CyclinD1-CDK4/CDK6-p21在皮肤病理性瘢痕和瘢痕癌中的作用[D].贵州:遵义医学院, 2013.
- [16]He T, Bai X, Jing J, et al. Notch signal deficiency alleviates hypertrophic scar formation after wound healing through the inhibition of inflammation[J]. Arch Biochem Biophys, 2020,682:108286.
- [17]Dong Y, Lv D, Zhao Z, et al. Lycorine inhibits hypertrophic scar formation by inducing ROS-mediated apoptosis[J]. Front Bioeng Biotechnol, 2022,10:892015.
- [18]Li L, Han W, Chen Y, et al. MiR-3613-3p inhibits hypertrophic scar formation by down-regulating arginine and glutamate-rich 1[J]. Mol Cell Biochem, 2021,476(2):1025-1036.
- [19]苏江维,余慧,杜坤,等. Notch1表达下调抑制病理性瘢痕成纤维细胞增殖并诱导其凋亡[J].基础医学与临床, 2020,40(3):328-333.
- [20]Cai B, Zheng Y, Ma S, et al. BANCER contributes to the growth and invasion of melanoma by functioning as a competing endogenous RNA to upregulate Notch2 expression by sponging miR204[J]. Int J Oncol, 2017,51(6):1941-1951.

[收稿日期]2024-01-11

本文引用格式: 孙伟晶,韩德志,李世杰,等. BANCER在增生性瘢痕中的表达及其作用机制[J].中国美容医学,2025,34(6):1-6.

· 论 著 ·

## 低强度脉冲超声联合BMP9修饰的BMSCs对大鼠牙槽骨缺损修复效果的研究

林利荣, 李振兴

(石家庄医学高等专科学校 河北 石家庄 050000)

**[摘要]**目的: 探讨低强度脉冲超声 (Low-intensity pulsed ultrasound, LIPUS) 联合骨形成蛋白9 (Bone morphogenetic protein 9, BMP9) 修饰的骨髓间充质干细胞 (Bone marrow derived mesenchymal stem cells, BMSCs) 对牙槽骨缺损的修复作用。方法: 在大鼠上颌第一磨牙近中区造成牙周骨缺损构建牙槽骨缺损大鼠模型, 将45只大鼠随机平均分为5组, 每组9只, 即正常组、对照组、超声治疗组、细胞治疗组、联合治疗组。通过CT扫描评价大鼠牙槽骨再生, 通过HE染色、Masson染色和免疫组织化学染色观察大鼠骨缺损修复程度。利用生物发光成像在体内追踪BMSCs。结果: 微型CT结果显示, 与对照组相比, 超声治疗组, 细胞治疗组, 联合治疗组促进了更多的新骨形成、BV、Tb. N增加、Tb. Sp降低, 其中联合治疗组的新骨形成率明显增加 ( $P < 0.05$ ); HE染色和Masson染色结果显示, 在三组治疗组中, 均可以观察到结缔组织、新血管形成和钙沉积物, 联合治疗组中更明显; 免疫组化染色结果显示, 在三组治疗组中, 联合治疗组COL-I 和骨桥蛋白表达增高更明显。生物发光显像显示LIPUS联合BMP9修饰的BMSCs组的荧光信号明显多于其他组, 有较多的BMSCs定植于牙槽骨缺损区。结论: LIPUS联合BMP9修饰的BMSCs可以促进牙槽骨再生, 对牙槽骨缺损修复的效果更好。

**[关键词]**低强度脉冲超声 (LIPUS); 骨形成蛋白9 (BMP9); 骨髓间充质干细胞 (BMSCs); 牙槽骨修复; 联合作用

**[中图分类号]**R781.42 **[文献标志码]**A **[文章编号]**1008-6455 (2025) 06-0006-05

通信作者: 李振兴, 主治医师; 主要研究方向为口腔医学。E-mail: 317206988@qq.com

第一作者: 林利荣, 主治医师; 主要研究方向为口腔医学。E-mail: leaudeau08@21cn.com